

Eixo Temático ET-09-010 - Biologia Aplicada

PRIMEIRA OCORRÊNCIA DE *Perenniporia centrali-africana* COMO ENDÓFITO EM FOLHAS DE MELANCIA NO SEMIÁRIDO DO NORDESTE BRASILEIRO

Mayara Alice Correia de Mélo¹, Rejane Maria Ferreira da Silva²,
Rafael José Vilela de Oliveira², Cristina Maria de Souza Motta³,
Gladstone Alves da Silva³

¹Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Graduanda em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais, Recife/Pernambuco. E-mail: maya_alice@hotmail.com.

²Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Recife/Pernambuco.

³Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Professor.

RESUMO

O gênero *Perenniporia* é cosmopolita ocupando diversos substratos, sendo também encontrado como endofítico em alguns vegetais como palma e cacau. Estudos recentes vêm utilizando dados moleculares para auxiliar na identificação desse grupo de fungo. O cultivo de melancia na região Nordeste destaca-se por ter grande importância socioeconômica. Esse trabalho tem como objetivo registrar a primeira ocorrência de *Perenniporia centrali-africana* como endófito em folhas de melancia, além da primeira ocorrência deste fungo para semiárido de Pernambuco. As folhas foram coletadas em cultivos de *Citrullus lanatus* localizados no município de Petrolândia, Pernambuco, em março de 2016. As folhas foram lavadas com água corrente e fragmentadas em 2,5 x 2,5 mm, desinfestadas e posteriormente lavadas três vezes em água destilada esterilizada. Oito fragmentos foram transferidos para placas de Petri, em triplicata, contendo meio de cultura de batata dextrose (BDA) acrescido de cloranfenicol (100mg/L-1). A identificação da espécie foi realizada através da elaboração de árvore filogenética utilizando sequências da região ITS do rDNA.

Palavras-chave: Basidiomycota; Endofítico; Filogenia.

INTRODUÇÃO

Perenniporia (Polyporales, Basidiomycetes) foi descrito por Murrill em 1942 e possui cerca de 150 espécies (Index Fungorum, 2018). Espécies desse gênero são caracterizadas principalmente por apresentarem basidiomas anuais a perenes, produzem basidiósporos elipsoides, pequenos, hialinos e apicalmente truncados (Decock & Stalpers 2006). Como endófito, espécies do gênero já foram relatadas em alguns vegetais, porém sua identificação não é fácil, devido a pouca quantidade de caracteres morfológicos. Estudos recentes vêm utilizando a biologia molecular para auxiliar na identificação desse grupo de fungo (Sánchez Marquez, 2007). A melancia (*Citrullus lanatus*) destaca-se por ter grande importância socioeconômica, fácil manejo e baixo custo. A região Nordeste vem sendo apontada como um potencial centro produtivo de melancia, com Pernambuco ocupando o terceiro lugar no cultivo desse fruto (IBGE, 2014).

OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo registrar a primeira ocorrência de *Perenniporia centrali-africana* como endófito em folhas de melancia, além da primeira ocorrência desse fungo para regiões do semiárido de Pernambuco.

METODOLOGIA

A coleta das folhas de melancia foi realizada em cultivos localizados no município de Petrolândia, sertão pernambucano. Após a coleta, as folhas foram lavadas em água corrente para a remoção dos resíduos superficiais e depois submetidas a técnica de desinfestação para eliminação dos micro-organismos epifíticos. A desinfestação consiste na imersão das folhas, em câmara asséptica, em etanol 70 % por 30 segundos, em hipoclorito de sódio (3%) por 1 minuto e 30 segundos e, posteriormente, três lavagens em água destilada esterilizada. Após a desinfestação de cada folha, foram retirados oito fragmentos de 2,5 x 2,5 mm. Esses fragmentos foliares foram distribuídos sobre o meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (100 µg/mL), contido em placas de Petri, e incubados a temperatura ambiente (28 ± 2°C). Qualquer colônia fúngica observada foi isolada, purificada e identificada.

Extração de DNA, amplificação (pcr) e sequenciamento: A extração do DNA genômico foi realizada, com o material previamente triturado, conforme Góes-Neto et al. (2005). Para amplificação da região ITS foram utilizados os primers ITS1 e ITS4 (White et al. 1990), usando os parâmetros e as concentrações de reagentes descritas em Oliveira et al. (2014). Os produtos das extrações de DNA e das reações de PCR (5 µL) foram visualizados sob luz UV, a partir de gel de agarose 1%, corado com GelRed, sendo purificados com o kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, Wisconsin, USA), seguindo as instruções do fabricante, e encaminhados para a plataforma de sequenciamento do Centro de Biociências da UFPE.

Análise filogenética: As sequências obtidas foram alinhadas com outras recuperadas do GenBank com o auxílio do programa Clustal X e editadas usando o programa BioEdit. A caracterização molecular final foi realizada com a construção de árvores filogenéticas utilizando os programas MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) e PhyML (Guindon & Gascuel 2003), respectivamente.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Durante o processamento de fungos endofíticos isolados de folhas de melancia, uma interessante espécie foi identificada como *Perenniporia centrali-africana*. Macroscopicamente o isolado, em meio de cultura contendo BDA, apresenta micélio branco, cotonoso sem pigmentação. Em relação as características microscópicas, o isolado apresenta hifas com grampo de conexão, no entanto estruturas reprodutivas como basídios e basidiosporos não foram observadas. Para a identificação molecular, foram realizadas análises filogenéticas a partir do sequenciamento da região ITS do rDNA. A sequência apresentou identidade de 99% com sequências depositadas no NCBI como *P. centrali-africana* (GenBank: KX584433). Na árvore filogenética nossa sequencia formou um clado com sequências de referência identificadas como *P. centrali-africana* (Figura 1).

Perenniporia Murrill é um gênero cosmopolita com capacidade de colonizar diversos habitats e substratos (Pinruan et al. 2010). Espécies pertencentes ao gênero são predominantemente encontradas em madeira, tendo sido relatadas como endófitos em vários vegetais, tais como cacau e palma (Pinruan et al. 2010). Nesse estudo *P. centrali-africana* é relatada pela primeira vez como endófito em folhas de melancia para semiárido do Nordeste brasileiro.

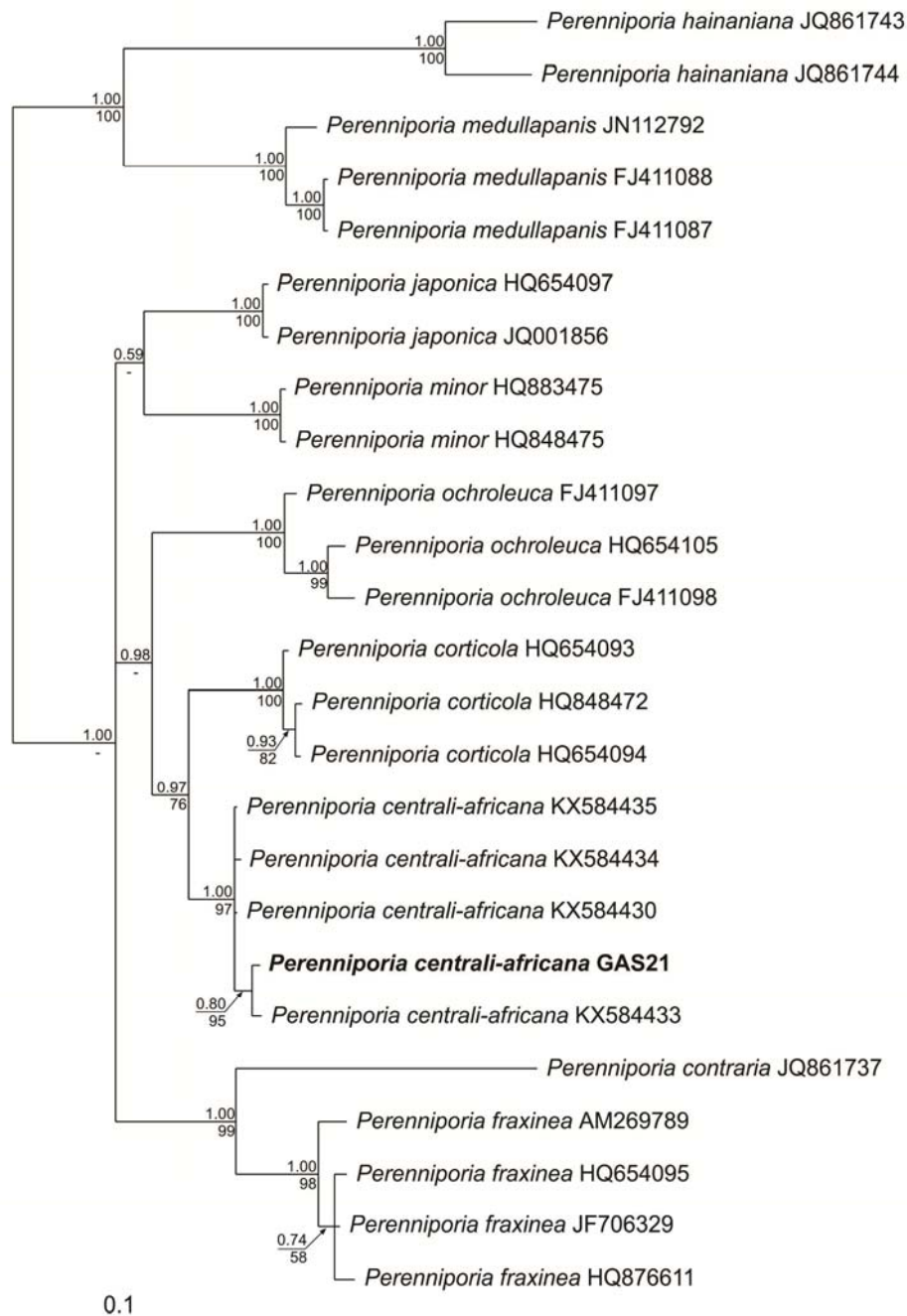


Figura 1. Filograma obtido a partir de análise bayesiana de sequências da região ITS do rDNA, mostrando o posicionamento de *P. centrali-africana* isolada de folhas de melancia. Valores de suporte são de análises de inferência Bayesiana e máxima verossimilhança, respectivamente.

CONCLUSÕES

Uso de técnicas moleculares como sequenciamento e reconstrução filogenéticas da região ITS do rDNA pode ser útil na identificação de espécies de basidiomicetos como *Perenniporia centrali-africana* que ocorre como endofítico e não produz estruturas reprodutivas

em meio artificial. Esse estudo relata a primeira ocorrência de *P. centrali-africana* como endófito no semiárido do Nordeste brasileiro.

REFERÊNCIAS

DECOCK, C.. STALPERS J. Studies in *Perenniporia*: *Polyporus unitus*, *Boletus medullapanis*, the nomenclature of *Perenniporia*, *Poria* and *Physisporus*, and a note on European *Perenniporia* with a resupinate basidiome. **Taxon**, v. 55, p. 759-778, 2006.

GÓES-NETO, A., LOGUERCIO-LEITE, C., GUERRERO, R.T. DNA extraction from frozen fieldcollected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. **Biotemas**, v. 18, p. 19-32, 2005.

GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biol.**, v. 52, p. 696-704, 2003.

INDEX FUNGORUM, Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>>. Acesso em: 10/04/2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal 2013**. Rio de Janeiro: IBGE, 2014.

OLIVEIRA, R. J. V. et al. *Corniculariella brasiliensis*, a new species of coelomycetes in the rhizosphere of *Caesalpinia echinata* (Fabaceae, Caesalpinioideae) in Brazil. **Phytotaxa**, v. 178, n. 3, p. 197-204, 2014.

PINRUAN, U.; RUNGJINDAMAI, N.; CHOYKLIN, R.; LUMYONG, S.; HYDE, K. D.; JONES, E. B. G. Occurrence and diversity of basidiomycetous endophytes from the oil palm, *Elaeis guineensis* in Thailand. **Fungal Diversity**, v. 41, p. 71-88, 2010.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, p. 1572-1574, 2003.

SÁNCHEZ MÁRQUEZ S, BILLS GF, ZABALGOGEAZCOA I. The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. **Fungal Divers**, v. 27, p. 171-195, 2007.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, L. Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Eds.). **PCR protocols: A guide to methods and applications**. New York: Academic Press, 1990. p. 315-322.